

? S PN=EP 615978
S3 1 PN=EP 615978
? T 3/3,AB/1

3/3,AB/1

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI
(c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

010028441

WPI Acc No: 1994-296154/199437

XRAM Acc No: C94-134973

Peptide derivs of boronic acid - are inhibitors of trypsin-like serine
protease(s) like thrombin, useful in treatment of angina, thrombotic
disorders, myocardial infarction, venous or arterial thrombosis, etc.

Patent Assignee: ADIR & CIE (ADIR)

Inventor: DE NANTEUIL G; LAUBIE M; LILA C; PORTEVIN B; RUPIN A; SIMONET S;
VERBEUREN T

Number of Countries: 022 Number of Patents: 013

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
FR 2701951	A1	19940902	FR 932082	A	19930224	199437 B
AU 9456302	A	19940901	AU 9456302	A	19940222	199437
EP 615978	A1	19940921	EP 94400393	A	19940224	199437
CA 2116181	A	19940825	CA 2116181	A	19940222	199440
JP 6298795	A	19941025	JP 9425245	A	19940223	199502
ZA 9401273	A	19941228	ZA 941273	A	19940224	199506
US 5444049	A	19950822	US 94199473	A	19940222	199539
NZ 250957	A	19950926	NZ 250957	A	19940223	199544
AU 666801	B	19960222	AU 9456302	A	19940222	199620
JP 2533290	B2	19960911	JP 9425245	A	19940223	199641
EP 615978	B1	19990512	EP 94400393	A	19940224	199923
DE 69418368	E	19990617	DE 618368	A	19940224	199930
			EP 94400393	A	19940224	
ES 2133504	T3	19990916	EP 94400393	A	19940224	199946

Priority Applications (No Type Date): FR 932082 A 19930224

Patent Details:

Patent No Kind Lan Pg Main IPC Filing Notes

EP 615978 A1 F 25 C07K-005/06

Designated States (Regional): AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL
PT SE

CA 2116181 A F C07K-005/06

JP 6298795 A 18 C07K-005/06

ZA 9401273 A 34 A61K-000/00

US 5444049 A 12 A61K-038/06

AU 666801 B C07F-005/04 Previous Publ. patent AU 9456302

JP 2533290 B2 18 C07K-005/065 Previous Publ. patent JP 6298795

EP 615978 B1 F C07K-005/06

Designated States (Regional): AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL
PT SE

DE 69418368 E C07K-005/06 Based on patent EP 615978

ES 2133504 T3 C07K-005/06 Based on patent EP 615978

FR 2701951 A1 C07K-005/06

AU 9456302 A C07F-005/04

NZ 250957 A C07K-005/06

Abstract (Basic): FR 2701951 A

BEST AVAILABLE COPY

Cpds of formula

$R_1NH-C(R_2R_2')-CO-A-CO-NH-CH(R_3)-B(OR_4)(OR_5)$ (I)

are inhibitors of trypsin-like serine proteases like thrombin.

R_1 = H, 1-6C acyl, 1-6C alkyl, benzyl, 1-6C alkoxy carbonyl, benzyloxycarbonyl, phenoxycarbonyl, 5-((dimethyl) amino)- naphthyl-sulphonyl, alkoxy carbonylmethyl or carboxymethyl.

R_2 = Ph, opt. substd benzyl, thienylmethyl, (pyridinyl)methyl, diphenylmethyl, fluorenyl, naphthylmethyl, benzocyclobutyl, (dicyclopropylmethyl)methyl, indanyl, or 3-7C cycloalkyl-methyl, and

R_2' = H or benzyl; or

R_2+R_2' = $C_6H_5CH=$.

R_3 = substd 2-4C alkyl; guanidino-, amidino- or amino-phenyl; guanidino-, amidino- or amino-benzyl; or 3-7C cycloalkyl.

R_4, R_5 = H or 1-6C alkyl; or

$B(OR_4)(OR_5)$ = boronic ester of pinanediol.

A = a gp. (i) where NA_1C forms a cyclic structure chosen from perhydroindole, 2-azabicyclo(2.2.2)octane, 2-azabicyclo (3.3.0)octane, 2-azabicyclo (2.2.1)heptane, perhydroisoindole, indoline, isoindoline, perhydroquinoline, perhydroisoquinoline, 1,2,3,4-tetrahydro- quinoline, 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, thiazolidine opt. substd by one or more 1-6C alkyl gps.;

a gp (ii) in which $n = 1$ or 2 , R_6 = H or 3-7C cycloalkyl, 1-6C alkyl or carboxymethyl, R_6' = H or $CR_6R_6' = 3-7C$ cycloalkyl, $A_2 = 1-6C$ alkyl, Ph, indanyl, 3-7C cycloalkyl opt substd by methyl(s), 3-7C cycloalkenyl, cyclopentadienyl, 2,2,2-trifluoro- 1-cyclopentylethyl, bicyclo (2.1.1)hexyl, bicyclo (2.2.1)heptyl or a gp. (iii) in which X, Y, different, = O, S, NH or CH_2 , or $A_2 = H$ when $R_6 = 3-7C$ cycloalkyl and $R_6' = H$, or $CR_6R_6' = 3-7C$ cycloalkyl.

(I) are admin orally or rectally.. Dosage is 1-500mg/day in one or several doses.

USE - (I) are used in the treatment of angina, thrombotic disorders, myocardial infarction, venous or arterial thrombosis, etc.

Abstract (Equivalent): US 5444049 A

Peptides derived from boronic acid of formula

$NHR_1-CHR_2-CO-NA_2-(CHR_6)_n-CONH-CHR_3-B(OR_4)(OR_5)$ (I), enantiomers, diastereoisomers, epimers and salts are new. R_1 = H, 1-6C acyl, benzyl, 1-6C alkoxy carbonyl, benzyloxycarbonyl or benzoyloxy; R_2 = H, opt. substd. benzyl, diphenylmethyl, naphthylmethyl (dicyclopropylmethyl)methyl, indanyl or 3-7C cycloalkylmethyl; R_3 = 2-4C alkyl (substd. with 1-6C alkoxy, guanidino or NH_2) or 3-7C cycloalkyl; R_4, R_5 = H or 1-6C alkyl; or $B(OR_4)(OR_5)$ forms boronic ester of pinanediol; $n = 1$ or 2 ; R_6 = H; A_2 is indanyl or opt. substd. 3-7C cycloalkyl; or $NA_2-(CHR_6)_n =$ Hug A1; A1 = perhydroindole, 2-axabicyclo(2,2,2)octane, 2-azabicyclo(3,3,0)octane, 2-azabicyclo(2,2,1)heptane, perhydroisoindole, indoline, isoindoline, perhydroquinoline, perhydroisoquinoline, 1,2,3,4-tetrahydroquinoline, 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline, opt. substd. thiazolidine.

Specifically claimed cpds. includes

1- (R) - ((Ac- (R) Phe-Phi) amino) -4- guanidinobutylboronic acid, where Phi is (2S,3aS,7aS) -perhydro-2-indolecarbonyl.

USE - (I) are serine protease inhibitors used as potent antithrombotics used to treat angina and myocardial infarction. Dosage is 1-500 mg taken several times.

Dwg.0/0



DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(21) Numéro de dépôt : 94400393.8

⑤ Int. Cl.⁸: C07K 5/06, A61K 37/64,
C07F 5/02

②② Date de dépôt : 24.02.94

(30) Priorité : 24.02.93 FR 9302082

④3 Date de publication de la demande :
21.09.94 Bulletin 94/38

84) Etats contractants désignés :
AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT U LU NL
PT SE

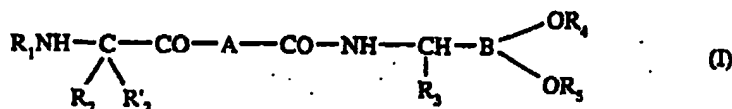
(71) Demandeur : ADIR ET COMPAGNIE
1 rue Carle Hébert
F-92415 Courbevoie Cédex (FR)

(72) Inventeur : de Nanteuil, Guillaume
12 rue du Chemin Vert
F-92150 Suresnes (FR)

Inventeur : Lila, Christine
11 rue du Général Gallienl
F-78220 Viroflay (FR)
Inventeur : Lauble, Michel
35 avenue Foch
F-92420 Vaucresson (FR)
Inventeur : Verbeuren, Tony
60 bis rue Aristide Briand
F-78840 Vernouillet (FR)
Inventeur : Simonet, Serge
43 rue Désiré Clément
F-78700 Conflans Sainte Honorine (FR)
Inventeur : Rupin, Alain
La Saintrie
F-37510 Savonnières (FR)
Inventeur : Portevin, Bernard
6 rue Frédéric Passy
F-78990 Elancourt (FR)

(54) Dérivés peptidiques de l'acide boronique ayant une activité inhibitant de protéase, leur procédé de préparation et les compositions pharmaceutiques qui les contiennent.

(57) L'invention concerne les composés de formule (I) :



dans laquelle :

R₁ représente un atome d'hydrogène ou un groupement acyle, alkyle, benzyle, alkoxycarbonyle, benzyloxy-carbonyle, phénoxy-carbonyle, 5-[(diméthyl)amino]naphthylsulfonyl, alkoxycarbonylméthyle ou carboxyméthyle.

R₂ représente un atome d'hydrogène ou un groupement phényle, benzyle substitué ou non, thiényl-3-méthyle, (pyridin-2-yl) méthyle, diphenylméthyle, fluorényle, naphthylméthyle, benzocyclobutyle, (dicyclo-propylméthyl) méthyle, indanyle ou cycloalkyl(C₃-C₇)méthyle,
R₂ représente un atome d'hydrogène ou un groupement benzyle

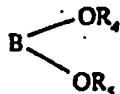
R₂ : représente un atome d'hydrogène ou un groupement benzyle

ou bien

R₂ et R'₂ représentent ensemble C₈H₅-CH=,

R_3 représente un groupement alkyle substitué, guanidinophényle, amidinophényle, aminophényle, guanidinobenzyle, amidinobenzyle, aminobenzyle ou cycdoalkyle.

R_4 et R_5 représentent chacun un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle, ou



forme un ester boronique de pinanediol.

A représente l'un quelconque des groupements tels que définis dans les descriptions.

Ces composés sont utiles en tant qu'inhibiteurs de trypsine-like sérine protéases comme thrombine.

EP.0 615 978 A1

La présente invention concerne des dérivés peptidiques d'acide boronique, leur procédé de préparation, les compositions pharmaceutiques qui les contiennent ainsi que leur utilisation en tant qu'inhibiteurs de tryp-

5 L'une de ces serine proteases, la thrombine, est l'enzyme clé de la coagulation et joue un rôle central dans la pathologie des thromboses veineuses et artérielles comme l'ont montré F. Toti et coll. (Sang, Thrombose, Vaisseaux, 4, 483494, 1992) et T.M. REILLY et coll. (Blood Coagulation and Fibrinolysis, 3, 513-517, 1992).

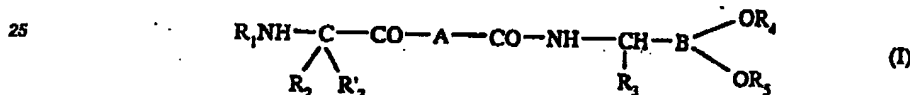
Les approches anti-thrombotiques sont plus efficaces et sans risque par rapport aux traitements actuels. Des inhibiteurs directs de la thrombine, actuellement en développement clinique, présentent toute une série d'avantages sur l'héparine. Mais ces substances, l'hirudine et l'hirulog-1 ont le désavantage de ne pas être

10 actives par voie orale. D'autre part, il est connu que des peptides contenant la séquence (D)Phe-Pro-Arg présente dans le fibrinogène, sont des inhibiteurs du site catalytique de la thrombine (C. KETTNER et coll., J. Biol. Chem., 265 (30), 18289-18297, 1990).

Des dérivés peptidiques de l'acide boronique, présentant une activité anti-thrombotique, ont déjà été décrits dans la littérature. C'est le cas plus particulièrement des composés décrits dans les brevets EP 293881 et EP 471651. M.A. HUSSAIN et coll. ont d'ailleurs démontré que l'acide Ac-(D)Phe-Pro-Arg boronique (DUP 714) est un inhibiteur de la thrombine (Peptides, 12, 1153-1154, 1991).

Il était donc particulièrement intéressant de synthétiser de nouveaux inhibiteurs de serine proteases afin d'augmenter la puissance, la sélectivité ainsi que l'activité par voie orale des composés déjà décrits dans la

20 littérature. Plus spécifiquement, la présente invention concerne les composés de formule (I) :



dans laquelle:

30 R_1 représente un atome d'hydrogène ou un groupement acyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, benzyle, alkoxy-carbonyl (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, benzyloxy-carbonyl, phénoxy-carbonyl, 5-[(diméthyl)amino]naphtylsulfonyl, ou alkoxy-carbonylméthyle ou carboxyméthyle,

R_2 représente un atome d'hydrogène ou un groupement :

- 35
- phényle,
 - benzyle (substitué ou non sur le noyau phényle par un ou plusieurs atomes d'halogène ou groupements alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, alkoxy (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, hydroxy ou bicyclooct-1-yle (substitué ou non par un groupement hydroxy ou alkoxy (C_1-C_6) linéaire ou ramifié)),
 - 40 - thiénylméthyle,
 - (pyridinyl)méthyle,
 - diphénylméthyle,
 - fluorényl,
 - naphtylméthyle,
 - benzocyclobutyle,
 - 45 - (dicyclopropylméthyl)méthyle,
 - indanyl,
 - ou, cycloalkyl (C_3-C_7) méthyle,

R'_2 représente un atome d'hydrogène ou un groupement benzyle

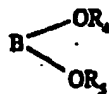
ou bien

50 R_2 et R'_2 représentent ensemble $C_6H_5-CH=$,

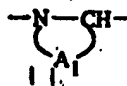
R_3 représente un groupement :

- 55
- alkyle (C_2-C_4) linéaire ou ramifié substitué par un groupement alkoxy (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, phénoxy, guanidino, amidino, amino, 2-tétrahydrofuryle ou cycloalkyle (C_3-C_7),
 - guanidinophényle, amidinophényle, aminophényle,
 - guanidinobenzyle, amidinobenzyle, aminobenzyle,
 - ou, cycloalkyle (C_3-C_7).

R_4 et R_5 représentent chacun un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, ou



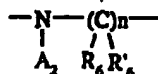
forme un ester boronique de pinanediol,
représente l'un quelconque des groupements suivants :



dans lequel :

représente avec les atomes d'azote et de carbone avec lesquels il est lié une structure cyclique choisie parmi les structures suivantes :

- perhydroindole,
- 2-azabicyclo[2.2.2]octane,
- 2-azabicyclo[3.3.0]octane,
- 2-azabicyclo[2.2.1]heptane,
- perhydroisindole,
- indoline,
- isindoline,
- perhydroquinoléine,
- perhydroisoquinoléine,
- 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine,
- 1,2,3,4-tétrahydroisoquinoléine,
- thiazolidine éventuellement substituée par un ou plusieurs groupements alkyl (C_1-C_8) linéaire ou ramifié,



dans lequel :

n représente 1 ou 2,

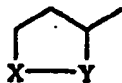
R_6 représente un atome d'hydrogène ou un groupement cycloalkyle (C_3-C_7), alkyle (C_1-C_8) linéaire ou ramifié ou carboxyméthyle,

R'_6 représente un atome d'hydrogène,

ou bien

R_6 et R'_6 forment avec l'atome de carbone qui les portent un groupement cycloalkyle (C_3-C_7),

A_2 représente un groupement alkyle (C_1-C_8) linéaire ou ramifié, phényle, indanyle, cycloalkyle (C_3-C_7) (substitué ou non par un ou plusieurs groupements méthyle) cycloalkényle (C_3-C_7), cyclopentadiényle, 2,2,2-trifluoro-1-cyclopentyléthyl, bicyclo[2.1.1]hexyl, bicyclo[2.2.1]heptyl ou un groupement :



dans lequel

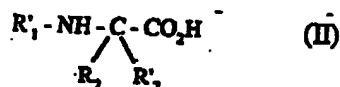
X et Y différents représentent un atome d'oxygène, de soufre, un groupement NH ou CH_2 ,

ou bien

A_2 représente un atome d'hydrogène (à la condition que dans ce cas R_6 représente un groupement cycloalkyle (C_3-C_7) et R'_6 représente un atome d'hydrogène, ou bien R_6 et R'_6 forment avec l'atome de carbone qui les portent un groupement cycloalkyle (C_3-C_7)),

leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

L'invention concerne également le procédé de préparation des dérivés de formule (I) caractérisé en ce que l'on fait réagir un amino-acide protégé de formule (II), dont on a éventuellement séparé les isomères par une technique classique de séparation :



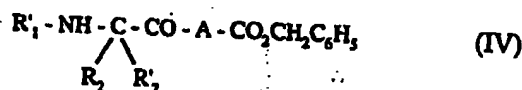
dans laquelle:

R'_1 représente un groupement acyle ($\text{C}_1 - \text{C}_6$) linéaire ou ramifié, benzyle, alkoxycarbonyle ($\text{C}_1 - \text{C}_6$) linéaire ou ramifié, benzyloxycarbonyle ou phénoxycarbonyle,

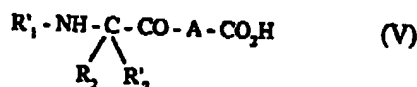
R_2 et R'_2 ont la même signification que dans la formule (I), que l'on fait réagir selon la technique de couplage peptidique décrite par W. KONIG et R. GEIGER (Ber., 103, 788, 1970), avec un deuxième amino-acide protégé de formule (III) dont on a éventuellement séparé les isomères selon une technique classique de séparation,



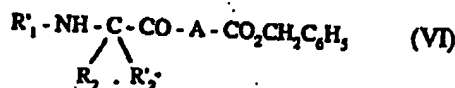
dans laquelle A a la même signification que dans la formule (I), pour conduire au composé de formule (IV) :



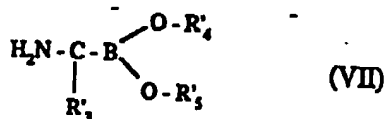
dans laquelle R'_1 , R_2 , R'_2 et A ont la même signification que précédemment, dont on déprotège la fonction acide par hydrogénation catalytique pour conduire au composé de formule (V) :



dans laquelle R'_1 , R_2 , R'_2 et A ont la même signification que précédemment, que l'on met en réaction avec du N-hydroxysuccinimide en présence de 1,3-dicyclohexylcarbodiimide en milieu anhydre, pour conduire au composé de formule (VI) :



dans laquelle R'_1 , R_2 , R'_2 et A ont la même signification que précédemment et Suc représente un radical succinimido, que l'on met en réaction en milieu basique avec un composé de formule (VII) :

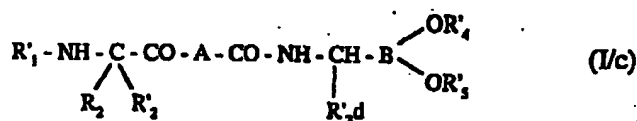


dans laquelle :

R'_3 représente un groupement :

- alkyle ($\text{C}_2 - \text{C}_4$) linéaire ou ramifié substitué par un atome d'halogène ou un groupement alkoxy ($\text{C}_1 - \text{C}_6$) linéaire ou ramifié, phénoxy, 2-tétrahydrofuryle ou cycloalkyle,

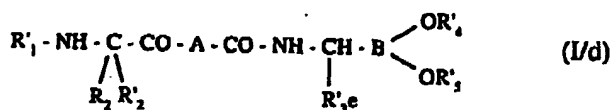
peut subir une déprotection pour conduire au composé de formule (I/c), cas particulier des composés de formule (I) :



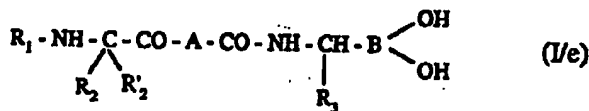
dans laquelle R₁, R₂, R₃, A, R₄ et R₅ ont la même signification que précédemment et R^{3d} représente un groupement alkyle, phényle ou benzyle, chacun étant substitué par un groupement amino.

composé de formule (I/c).

dont on peut transformer le radical amino du groupement R'_3 en radical guanidino par réaction avec du cyanamide, pour conduire au composé de formule (I/d), cas particulier des composés de formule (I):



dans laquelle R¹, R², R^{2'}, A, R⁴ et R⁵ ont la même signification que précédemment et R³, représente un groupement alkyle, phényle ou benzyle, chacun étant substitué par un groupement guanidino, composé de formule (I/a), (I/b), (I/c) ou (I/d) dont on déprotège, si on le souhaite, la fonction amine terminale et que l'on transforme, en milieu inerte, à l'aide de trichlorure de bore, en acide bororique de formule (I/e), cas particulier des composés de formule (I) :



dans laquelle R_1 , R_2 , R'_2 , A et R_3 ont la même signification que dans la formule (I), composé de formule (I/a), (I/b), (I/c), (I/d) ou (I/e) :

- que l'on purifie éventuellement selon une technique classique de purification,
- dont on sépare, si on le souhaite, les énantiomères selon une technique classique de séparation

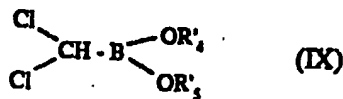
et que l'on transforme, le cas échéant, en ses sels d'addition à un acide ou une base pharmaceutiquement acceptable.

Parmi les acides pharmaceutiquement acceptables, on peut citer à titre non limitatif les acides chlorhydrique, bromhydrique, sulfurique, phosphorique, acétique, trifluoroacétique, lactique, pyruvique, malonique, succinique, glutarique, fumarique, tartrique, maléique, citrique, ascorbique, méthane sulfonique, camphorique, oxalique, etc...

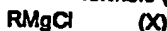
Parmi les bases pharmaceutiquement acceptables, on peut citer à titre non limitatif, l'hydroxyde de sodium, l'hydroxyde de potassium, le bicarbonate de sodium, etc...

Les composés de formule (VII) sont obtenus :

- soit à partir du composé de formule (IX) obtenu selon le procédé décrit par M.W. RATHKE et coll. (J. Organomet. Chem., 112, 145-149, 1976):

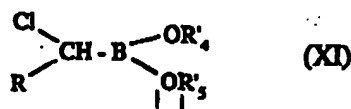


dans laquelle R'_4 et R'_6 sont tels que définis plus haut, que l'on fait réagir sur un organomagnésien de formule (X) :



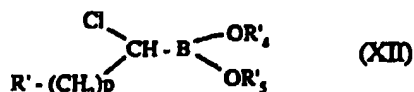
dans laquelle R représente :

- un groupement alkyl (C_2-C_4) linéaire ou ramifié (substitué par un groupement alkoxy (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, phénoxy, 2-tétrahydrofuryle ou cycloalkyl (C_5-C_7)).
- un groupement cycloalkyl (C_3-C_7).
- ou, un groupement phényl ou benzyl, chacun étant substitué par un groupement amino convenablement protégé ou par un atome d'halogène, pour conduire au composé de formule (XI) :



dans laquelle R, R'₄ et R'₅ sont tels que définis précédemment, que l'on met en réaction avec le 1,1,1,3,3,3-hexaméthylidisilazane (HMDS) en présence de n-butyllithium pour conduire, après traitement en milieu acide, au composé de formule (VII),

- soit à partir d'un ester boronique α-chloré de formule (XII), préparé selon le procédé décrit par D.S. MATTESON et coll. (Organometallica, 3, 1284-1288, 1984) et W. RATTHKE et coll. (J. Biol. Chem., 265 (30), 18289-18297, 1990) :



dans laquelle R'₄ et R'₅ sont tels que définis plus haut, p est un entier égal à 3 ou 4 et R' représente un atome d'halogène ou groupement alkoxy, que l'on met en réaction avec le 1,1,1,3,3,3-hexaméthylidisilazane (HMDS) en présence de n-butyllithium pour conduire, après traitement en milieu acide, au composé de formule (VII).

Les composés de la présente invention, outre le fait qu'ils soient nouveaux, présentent des propriétés pharmacologiques particulièrement intéressantes.

Ce sont de puissants inhibiteurs de trypsine-like sérine protéases qui présentent une importante sélectivité vis-à-vis de la thrombine par rapport à d'autres sérine protéases de la coagulation. Ils possèdent d'autre part une meilleure activité par voie orale que le composé de référence DUP 714.

Ces propriétés les rendent donc utiles dans le traitement des angines stables ou non, des maladies d'origine thrombotique et/ou donnant lieu à des complications thrombotiques ainsi que dans le traitement ou la prévention de l'infarctus du myocarde et des thromboses veineuses ou artérielles.

Ils peuvent également être utilisés en association thérapeutique avec un thrombolytique.

L'invention s'étend aussi aux compositions pharmaceutiques renfermant comme principe actif au moins un composé de formule (I) avec un ou plusieurs excipients inertes, non toxiques et appropriés. Les compositions pharmaceutiques ainsi obtenues pourront être présentées sous diverses formes, les plus avantageuses étant les comprimés, les dragées, les gélules, suppositoires, suspensions buvables, etc...

La posologie utile est adaptable selon la nature et la sévérité de l'affection, la voie d'administration ainsi que selon l'âge et le poids du patient. Cette posologie varie de 1 à 500 mg par jour en une ou plusieurs prises.

Les exemples suivants illustrent l'invention mais ne la limitent en aucune façon.

Les produits de départ utilisés sont des produits de départ connus ou préparés selon des modes opératoires connus.

Les préparations A, B et C conduisent à des intermédiaires utiles dans la préparation des composés de l'invention.

Préparation A : (R)-1-Amino-4-bromobutylboronate de (+)-α-pinandiol, chlorhydrate

Ce composé a été obtenu selon le procédé décrit par C. KETTNER et coll. (J. Biol. Chem., 265 (30), 18289-18297, 1990) par réaction du bromure d'allyle sur le catéchoiborane, suivie d'une transestérification avec du (+)-α-pinandiol puis d'une réaction d'homologation en présence de dichlorométhyllithium et enfin de la réaction avec de l'hexaméthyl-disilazane.

Point de fusion : 180°C

Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{25} = +16,5^\circ$ (c = 1 %, éthanol)

Microanalyse élémentaire :				
	C %	H %	N %	Cl %
calculé	45,88	7,15	3,82	9,87
trouvé	45,82	7,09	4,13	9,85

10 **Préparation B : (R)-(1-Amino-1-cyclopentyl)méthylboronate de (+)α-pinanediol, chlorhydrate**

Stade A : Dichlorométhylboronate de (+)α-pinanediol

15 Ce composé a été synthétisé selon le procédé décrit par W. RATHKE et coll. (J. Organomet. Chem., 122, 145-149, 1976) à partir de dichlorométhane et de (+)α-pinanediol et est purifié par distillation sous vide.
Point d'ébullition : 125°C (p = 0,4 mm/Hg)

Stade B : Cyclopentyl chlorométhylboronate de (+)α-pinanediol

20 A une solution contenant 4,75 mmoles du composé obtenu au stade précédent dans 7 ml de tétrahydrofurane anhydre refroidie à -78°C sont ajoutées, goutte à goutte, 4,75 mmoles de chlorure de cyclopentylmagnésium. L'ensemble est maintenu une heure à 0°C, puis après retour à température ambiante, le THF est évaporé. Le résidu est repris par un mélange éther-eau, la phase étherée décantée, séchée et évaporée et
 25 un mélange pentane/dichlorométhane (90/10).

Stade C : (R)-(1-Amino-1-cyclopentyl)méthylboronate de (+)α-pinanediol, chlorhydrate

30 Ce composé a été obtenu selon le procédé décrit par C. KETTNER et coll. (J. Biol. Chem., 265 (30), 18289-18297, 1990) en utilisant le composé décrit au stade précédent.
Pouvoir rotatoire : $[\alpha]_D^{21} = +13,4^\circ$ (c = 1 %, méthanol)

Préparation C : (R)-1-Amino-4-méthoxybutylboronate (+)α-pinanediol, chlorhydrate

35 **Stade A : Allylméthyléther**

93 mmoles de méthylate de sodium et 85 mmoles de bromure d'allyle sont agitées dans une bouteille pression à température ambiante pendant 12 heures. Après refroidissement dans de la carboglace, le produit attendu est obtenu par distillation à pression atmosphérique.
 40 Point d'ébullition : Eb = 54-55°C

Stade B : 4-Méthoxybutylcathécolborane

45 64 mmoles du produit obtenu au stade précédent et 71,4 mmoles de cathécolborane sont chauffées à reflux pendant 18 heures. Le produit attendu est alors obtenu par distillation.
Point d'ébullition : 80°C (p = 0, 1 mmHg)

Stade C : 4-Aminobutyl boronate de (+)α-pinanediol

50 20,5 mmoles du produit obtenu au stade précédent sont dissoutes dans 22 ml de tétrahydrofurane anhydre. Après refroidissement à 0°C, 20,5 mmoles de (+)α-pinanediol sont ajoutées au mélange précédent. L'ensemble est laissé 45 minutes à 5-10°C puis 45 minutes à température ambiante. Après évaporation du solvant, 95 ml d'hexane sont ajoutés et l'ensemble est abandonné une nuit au congélateur. Le précipité glacé est alors
 55 et conduit au produit attendu.
Point d'ébullition : 80°C (p = 0,01 mmHg)

Stade D : (R)-1-Chloro-4-méthoxybutyl boronate de (+) α -pinanediol

Stade E : (R)-1-Amino-4-méthoxybutylboronate de (+) α -pinanediol, chlorhydrate

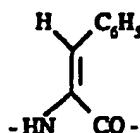
Les produits décrits dans les stades D et E ont été obtenus selon le procédé décrit par C. KETTNER et coll. (J. Biol. Chem., **285** (30), 18289-18297).

Les abréviations utilisées dans les exemples sont les suivantes :

Ac	représente acétyl,
Bz	représente benzyl,
10 Suc	représente le groupement succinimido,
(R)Phe	représente le résidu (R)-phénylalanyle,
Phi	représente le résidu (2S,3aS,7aS)perhydroindole-2-carbonyl,
Abo	représente le résidu (3S)-2-azabicyclo[2.2.2]octane-3-carbonyl,
Ala	représente le résidu alanyl,
15 Gly	représente le résidu glycyl,
Clp	représente le résidu 1-aminocyclopentylcarbonyl de formule :



Asp	représente le résidu aspartyle,
β Ala	représente le résidu β -alanyle,
25 Acn	représente le résidu 2-aminocinnamyle de formule :



Exemple 1 : 1-(R)-[(Ac-(R,S)Phe-Phi)amino]-4-aminobutylboronate de (+) α -pinanediol, méthane sulfonate

Stade A : Ac-(R,S)Phe-Phi-OBz

En utilisant la technique de couplage peptidique (DCC/HOBT) décrite par W.KONIG et R.GEIGER (Ber., **103**, 788, 1970) et le diméthylformamide anhydre comme solvant, le produit attendu est préparé à partir de 73 mmoles de Phi-OBz et de Ac-(R)Phe-OH et est purifié par chromatographie sur colonne de silice en utilisant comme éluant un mélange dichlorométhane/éthanol (97/3).

Rendement : 76 %

Stade B : Ac-(R,S)Phe-Phi-OH

25 mmoles du produit obtenu au stade précédent dans 140 ml d'éthanol sont hydrogénées sous une pression d'hydrogène de 4 kg pendant 12 heures en présence de 2 g de palladium/C à 10 % anhydre. Après filtration du catalyseur, le produit attendu est obtenu après évaporation du solvant.

Rendement : 97 %

Stade C : Ac-(R,S)Phe-Phi-OSuc

A 4,46 mmoles de N-hydroxysuccinimide dans 50 ml de dichlorométhane anhydre, sont ajoutées 4,46 mmoles du produit obtenu au stade précédent dans 20 ml de dichlorométhane anhydre puis 4,46 mmoles de dicyclohexylcarbodiimide dissous dans du dichlorométhane. L'ensemble est agité 12 heures à température ambiante. Après filtration de la dicyclohexylurée formée, le produit attendu est obtenu après évaporation.

Stade D : 1-(R)-[(Ac-(R,S)Phe-Phi)amino]-4-bromobutylboronate de (+)- α -pinanediol

1 mmole du composé obtenu dans la préparation A dans 10 ml de dichlorométhane anhydre et 1 mmole du composé obtenu au stade précédent sont placées sous atmosphère d'argon à -20°C. 14 ml de triéthylamine sont alors ajoutés goutte à goutte et l'ensemble est maintenu 30 minutes à -20°C. Après retour à température ambiante, le mélange est agité une nuit sous atmosphère d'argon. Après reprise par de l'acétate d'éthyle, lavage à l'eau, au bicarbonate de sodium, à l'eau, à l'acide chlorhydrique 0,2N et enfin à l'eau, la phase organique est séchée et évaporée. Le produit attendu est obtenu après purification sur "sephadex".

Rendement : 90 %

Stade E : 1-(R)-[(Ac-(R,S)Phe-Phi)amino]-4-azidobutylboronate de (+)- α -pinanediol

1,5 mmoles du produit obtenu au stade précédent dans 3 ml de diméthylformamide anhydre sont placées à 100°C en présence de 3 mmoles d'azoture de sodium pendant 4 heures. Après 12 heures à température ambiante, l'ensemble est repris par un mélange acétate d'éthyle/eau, la phase organique est lavée plusieurs fois, séchée et évaporée et conduit au produit attendu.

Rendement : 95 %

Stade F : 1-(R)-[(Ac-(R,S)Phe-Phi)amino]-4-aminobutylboronate de (+)- α -pinanediol, méthane sulfonate

1,4 mmoles du composé obtenu au stade précédent dans 25 ml de méthanol anhydre sont hydrogénées en présence de 1,4 mmoles d'acide méthane sulfonique en utilisant 50 mg de palladium/C à 10 % comme catalyseur, pendant 2 heures. Après filtration du catalyseur, rinçage et évaporation, on obtient le produit attendu.

Rendement : 95 %

Exemple 2 : 1-(R)-[(Ac-(R,S)Phe-Phi)amino]-4-guanidinobutylboronate de (+)- α -pinanediol, méthane sulfonate

1,3 mmoles du composé obtenu dans l'exemple 1 et 10,3 mmoles de cyanamide sont portées à reflux dans 8 ml d'éthanol anhydre pendant 10 jours. Après évaporation de l'éthanol, passage sur résine sephadex en retenant le résidu par du méthanol, on obtient le produit attendu.

Rendement : 91 %

Exemple 3 : Acide 1-(R)-[(Ac-(R,S)Phe-Phi)amino]-4-guanidinobutyl boronique, acétate

1,2 mmoles du composé obtenu dans l'exemple 2 dans 30 ml de dichlorométhane anhydre sont refroidies à -78°C sous atmosphère d'argon. 4,8 mmoles de trichlorure de bore sont alors additionnées goutte à goutte en 30 minutes. La température est amenée à 0°C et l'ensemble agité 30 minutes. 10 ml d'eau glacée sont alors ajoutés et après 15 minutes d'agitation, le mélange est amené à température ambiante. La phase organique est décantée, extraite par 10 ml d'un mélange eau/acide acétique (90/10). La phase aqueuse restante est lavée à l'éther et les phases aqueuses réunies sont évaporées. Le résidu est purifié sur Bio-gel en utilisant comme éluant un mélange eau/acide acétique (90/10) et conduit au produit attendu qui est lyophilisé.

Microanalyse élémentaire :			
	C %	H %	N %
calculé	56,45	7,54	14,63
trouvé	54,71	7,26	13,59

Exemple 4 : Acide 1-(R)-[(Ac-(R)Phe-Phi)amino]-4-aminobutyl boronique, acétate

Ce composé a été obtenu selon le même procédé que celui décrit pour l'exemple 3 en utilisant comme produit de départ le composé de l'exemple 1.

Exemple 5 : (R)-[(Ac-(R)Phe-Phl)amino]-(cyclopentyl)méthylboronate de (+)α-pinanediol

Stades A à C :

ces stades sont identiques aux stades A à C de l'exemple 1.

Stade D :

Ce composé a été obtenu selon le procédé décrit au stade D de l'exemple 1 à partir du composé obtenu au stade C et du composé obtenu dans la préparation B.

Rendement : 90 %

Exemple 6 : Acide (R)-[(Ac-(R)Phe-Phl)amino]-(cyclopentyl)méthyl boronique, acétate

Ce composé a été obtenu selon le procédé décrit pour l'exemple 3 en utilisant comme produit de départ le composé de l'exemple 5.

Les composés des exemples 7 à 14 ont été synthétisés selon le même procédé que celui décrit pour l'exemple 1 en utilisant les produits de départ correspondants.

Exemple 7 : 1-(R)-[(Ac-(R,S)Phe-Abo)amino]-4-aminobutylboronate de (+)α-pinanediol, méthane sulfonate

Exemple 8 : 1-(R)-[(Ac-(R)-(cyclohexyl)Ala-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-aminobutylboronate de (+)α-pinanediol, méthane sulfonate

Exemple 9 : 1-(R)-[(Ac-(R)Phe-(N-cyclobutyl)Gly]amino)-4-aminobutylboronate de (+)α-pinanediol, méthane sulfonate

Exemple 10 : 1-(R)-[(Ac-(R,S)Phe-(N-cyclohexyl)Gly]amino)-4-aminobutylboronate de (+)α-pinanediol, méthane sulfonate

Exemple 11 : 1-(R)-[(Ac-(R,S)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-aminobutylboronate de (+)α-pinanediol, méthane sulfonate

Exemple 12 : 1-(R)-[(Ac-(R)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-aminobutylboronate de (+)α-pinanediol, méthane sulfonate

Exemple 13 : 1-(R)-[(Ac-(S)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-aminobutylboronate de (+)α-pinanediol, méthane sulfonate

Exemple 14 : 1-(R)-[(Ac-(R,S)Phe-(N-(R,S)Indan-1-yl)Gly]amino)-4-aminobutylboronate de (+)α-pinanediol, méthane sulfonate

Les exemples 15 à 22 ont été synthétisés selon le même procédé que celui décrit pour l'exemple 2 en utilisant les produits de départ correspondants.

Exemple 15 : 1-(R)-[(Ac-(R,S)Phe-Abo)amino]-4-guanidinobutylboronate de (+)α-pinanediol, benzène sulfonate

A partir du composé décrit dans l'exemple 7.

Exemple 16 : 1-(R)-[(Ac-(R)-(cyclohexyl)Ala-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronate de (+)α-pinanediol, benzène sulfonate

A partir du composé de l'exemple 8.

Exemple 17 : 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-cyclobutyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronate de (+) α -pinanediol, benzène sulfonate

A partir du composé de l'exemple 9.

Exemple 18 : 1-(R)-([Ac-(R,S)Phe-(N-cyclohexyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronate de (+) α -pinanediol, benzène sulfonate

A partir du composé de l'exemple 10.

Spectre de masse : FAB^+ : $[M+H]^+$: $m/z = 636$

Exemple 19 : 1-(R)-([Ac-(R,S)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronate de (+) α -pinanediol, benzène sulfonate

A partir du composé de l'exemple 11.

Spectre de masse : FAB^+ : $[M+H]^+$: $m/z = 622$

Exemple 20 : 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronate de (+) α -pinanediol, trifluoroacétate

A partir du composé de l'exemple 12.

Spectre de masse : FAB^+ : $[M+H]^+$: $m/z = 622$

Exemple 21 : 1-(R)-([Ac-(S)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronate de (+) α -pinanediol, benzène sulfonate

A partir du composé de l'exemple 13.

Exemple 22 : 1-(R)-([Ac-(R,S)Phe-(N-(R,S)Indan-1-yl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronate de (+) α -pinanediol, benzène sulfonate

A partir du composé de l'exemple 14.

Les exemples 23 à 30 ont été synthétisés selon le même procédé que celui décrit dans l'exemple 3 à partir des produits de départ correspondants.

Exemple 23 : Acide 1-(R)-([Ac-(R,S)Phe-Abo]amino)-4-guanidinobutyl boronique, acétate

A partir du composé de l'exemple 15.

Spectre de masse : FAB^+ : $[M+glycérol-2H_2O+H]^+$: $m/z = 557$

Exemple 24 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)-(cyclohexyl)Ala-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutyl boronique, acétate

A partir du composé de l'exemple 16.

Spectre de masse : FAB^+ : $[M+glycérol-2H_2O+H]^+$: $m/z = 586$

Exemple 25 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-cyclobutyl)Gly]amino)-4-guanidinobutyl boronique, acétate

A partir du composé de l'exemple 17.

Spectre de masse : FAB^+ : $[M+glycérol-2H_2O+H]^+$: $m/z = 566$

Exemple 26 : Acide 1-(R)-([Ac-(R,S)Phe-(N-cyclohexyl)Gly]amino)-4-guanidinobutyl boronique, méthane sulfonate

A partir du composé de l'exemple 18.

Microanalyse élémentaire :			
	C %	H %	N %
calculé	55,52	7,71	14,94
trouvé	56,20	7,25	14,54

6

10 **Exemple 27 :** Acide 1-(R)-([Ac-(R,S)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutyl boronique, acétate

A partir du composé de l'exemple 19.

Spectre de masse : FAB^+ : $[M+glycérol-2H_2O+H]^+$ $m/z = 580$

15

Exemple 28 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutyl boronique, acétate

A partir du composé de l'exemple 20.

Spectre de masse : FAB^+ : $[M+glycérol-2H_2O+H]^+$ $m/z = 580$

20

Exemple 29 : Acide 1-(R)-([Ac-(S)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutyl boronique, acétate

A partir du composé de l'exemple 21.

Spectre de masse : FAB^+ : $[M+glycérol-2H_2O+H]^+$ $m/z = 580$

25

Exemple 30 : Acide 1-(R)-([Ac-(R,S)Phe-(N-(R,S)Indan-1-yl)Gly]amino)-4-guanidinobutyl boronique, acétate

A partir du composé de l'exemple 22.

Spectre de masse : FAB^+ : $[M+glycérol-2H_2O+H]^+$ $m/z = 593$

30

Exemple 31 : 1-(R)-([Ac-(R,S)Phe-Ph]amino)-4-méthoxybutylboronate de (+)- α -pinanediol

35 Ce composé a été synthétisé selon le procédé décrit dans l'exemple 1 (stades A à D) en remplaçant au stade D le composé obtenu dans la préparation A par le composé obtenu dans la préparation C.

Microanalyse élémentaire :			
	C %	H %	N %
calculé	67,63	8,43	6,76
trouvé	67,18	8,39	7,10

40

45

Exemple 32 : Acide 1-(R)-([Ac-(R,S)Phe-Ph]amino)-4-méthoxy boronique

Ce composé a été synthétisé selon le procédé décrit dans l'exemple 3 à partir du composé décrit dans l'exemple 31.

Spectre de masse : FAB^+ : $[M+glycérol-H_2O+H]^+$ $m/z = 543$

50

Exemple 33 : 1-(R)-([N-(5-Diméthylamino-1-naphtalènesulfonyl)Gly-Ph]amino)-4-aminobutylboronate de (+)- α -pinanediol, benzène sulfonate

55 **Stades A à D :**

Ces stades A à D sont identiques aux stades A à D de l'exemple 1 mais au stade A on remplace Ac-(R)Phe-OH par Boc-Gly-OH.

Stade E : 1-(R)-[(Gly-Ph)amino]-4-bromobutylboronate de (+)- α -pinanediol, trifluoroacétate

6,64 mmoles du produit obtenu au stade précédent en solution du 20 ml de dichlorométhane à 0°C sont déprotégées en présence de 53 mmoles d'acide trifluoroacétique. Après 1 heure d'agitation, 24 heures à température ambiante, évaporation du solvant et séchage, on obtient le produit attendu.

Stade F : 1-(R)-[N-(5-Diméthylamino-1-naphtalènesulfonyl)Gly-Ph]amino-4-bromobutylboronate de (+)- α -pinanediol

A 6,53 mmoles du composé obtenu au stade précédent en solution dans 100 ml de tétrahydrofurane, à l'abri de la lumière, sont ajoutées 19,8 mmoles de triéthylamine. Après 5 minutes d'agitation, 6,6 mmoles de chlorure de Dansyl sont ajoutées par portions. Après 4 heures d'agitation, évaporation du solvant, reprise du résidu par de l'acétate d'éthyle, lavage par de l'hydrogénocarbonate de sodium et évaporation on obtient le produit attendu après purification sur colonne SEPHADEX LH 20 en utilisant le méthanol comme éluant.

Stades G et H :

Ces stades sont identiques aux stades E et F de l'exemple 1 mais au stade F l'acide méthane sulfonique est remplacé par l'acide benzène sulfonique.

Exemple 34 : 1-(R)-[N-(5-Diméthylamino-1-naphtalènesulfonyl)Gly-Ph]amino-4-guanidinobutylboronate de (+)- α -pinanediol, benzène sulfonate

Le produit attendu est obtenu selon le procédé décrit dans l'exemple 2 à partir du composé de l'exemple 33.

Spectre de masse : $FAB^+ (I^+)$: $[M+H]^+ m/z = 750$

Exemple 35 : Acide 1-(R)-[N-(5-Diméthylamino-1-naphtalènesulfonyl)Gly-Ph]amino-4-guanidinobutyl boronique, diacétate

Le produit attendu est obtenu selon le procédé décrit dans l'exemple 3 à partir du composé de l'exemple 34.

Spectre de masse : $FAB^+ (I^+)$: $[M+H-glycérol-H_2O]^+ m/z = 672$

Les exemples 36 à 61 ont été synthétisés selon le procédé décrit dans l'exemple 3 en utilisant les produits de départ correspondants.

Exemple 36 : Acide 1-(R)-[Ac-(R)Phe-(N-cyclopenta-2,4-diène)Gly]amino-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 37 : Acide 1-(R)-[Ac-(R)Phe-(N-bicyclo[2.1.1]hex-5-yl)Gly]amino-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 38 : Acide 1-(R)-[Ac-(R)Phe-(N-1,2-oxazolidin-3-yl)Gly]amino-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 39 : Acide 1-(R)-[Ac-(R)Phe-(N-cyclopent-3-ène)Gly]amino-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 40 : Acide 1-(R)-[Ac-(R)Phe-(N-cyclopent-2-ène)Gly]amino-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 41 : Acide 1-(R)-[Ac-(R)Phe-(N-(1-méthyl)cyclopentyl)Gly]amino-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 42 : Acide 1-(R)-[Ac-(R)Phe-(N-(3,5-diméthyl)cyclopentyl)Gly]amino-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 43 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-(2,2-diméthyl)cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 44 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-(1-cyclopentyl)2,2,2-trifluoroéthyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 45 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-cyclopropyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 46 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-(3-méthyl)cyclobutyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 47 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-(1-éthyl)propyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 48 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)(3-thiényl)Ala-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 49 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)(diphényl)Ala-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 50 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 51 : Acide 1-(R)-([Ac-(N-méthyl)(R)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 52 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)(benzocyclobutyl)Gly-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 53 : Acide 1-(R)-([Ac-(N-méthyl)-(R)-phénylGly-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 54 : Acide 1-(R)-([Ac-(N-méthoxycarbonylméthyl)-(R)Phe-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 55 : Acide 1-(R)-([Ac-[di(phénylméthyl)]Gly-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 56 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 57 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-Clp]-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 58 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-cyclopentyl)Ala]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 59 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-cyclopentyl)Asp]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 60 : Acide 1-(R)-([Ac-(R)Phe-(N-cyclopentyl)- β -Ala]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Exemple 61 : Acide 1-(R)-([Ac-(ACN)-(N-cyclopentyl)Gly]amino)-4-guanidinobutylboronique, acétate

Etude pharmacologique des composés de l'invention

Exemple 62 : Activité antithrombotique

Le modèle de thrombose expérimentale utilisé est celui d'une thrombose veineuse induite chez le rat Wistar mâle par ligature de la veine cave inférieure sous la veine rénale gauche.

Les animaux à tester sont anesthésiés par administration intrapéritonéale de Brietal® (méthohexital so-

dique) à la dose de 1 mg/kg.

La ligature est alors réalisée. Le produit à tester est injecté 15 minutes avant la ligature par voie intraveineuse. 25 minutes après la ligature, la veine est excisée et le caillot est récupéré puis pesé après passage dans une étuve à 37°C pendant 12 heures.

Les composés de l'invention ont été testés aux doses de 0,1, 0,25 et 0,5 mg/kg et comparés au DUP 714 utilisé comme composé témoin.

Les résultats de ce test ont montré que les composés de l'invention permettent une diminution significative du poids du caillot aussi importante que celle observée lors de l'injection du composé de référence (DUP 714). A 0,25 mg/kg, les composés de l'invention inhibent la formation du caillot d'environ 50 %.

Exemple 63 : Activité anti-coagulante, mesure du temps de thrombine, chez le rat et chez l'homme

En présence d'une quantité standard de thrombine, un plasma normal coagule en un temps défini et constant, appelé temps de thrombine (TT).

Tout allongement de ce temps traduit une anomalie de la fibrinofomation (coagulation).

Les rats Sprague-Dawley sont anesthésiés avec du pentobarbital sodique (60 mg/kg, l.p.), l'artère carotide est cathétérisée et les prélèvements sanguins réalisés dans une solution de citrate trisodique (0,109 M). Un plasma pauvre en plaquettes est obtenu par centrifugation des échantillons sanguins (3000 g, 15 minutes).

Des prélèvements de sang veineux au pli du coude sont également réalisés chez l'homme. L'anticoagulation des prélèvements et la préparation du plasma pauvre en plaquettes sont identiques à celles réalisées avec le sang de rat.

Le temps de thrombine est réalisé avec le réactif thrombine Prest et déterminé automatiquement en utilisant un coagulomètre.

L'antagoniste ou le solvant (10 µl) est additionné au plasma (90 µl), puis incubé 2 minutes à 37°C. 100 µl de thrombine sont ajoutés en déclenchant le chronomètre.

Dans ces conditions, les TT obtenus dans le plasma témoin sont de l'ordre de 30 secondes chez le rat et de 20 secondes chez l'homme. L'activité d'un antagoniste est évaluée par sa capacité à prolonger ce temps de thrombine par rapport au témoin.

Dans ces conditions, les composés de l'invention permettent une prolongation du temps de thrombine de 50 fois et plus. L'effet des inhibiteurs est mesuré et la concentration qui multiplie par 2 le temps de thrombine (CTt₂) est déterminée. Les résultats sont reproduits dans le tableau suivant :

Produits	Rat CTT ₂ (µM)	HOMME CTT ₂ (µM)
ex. 3	0.23	0.07
ex. 23	0.17	0.11
ex. 27	-	0.20
ex. 28	-	0.19
Réf. : DUP 714	0.32	0.18

Ainsi avec le composé de l'exemple 23, la concentration nécessaire pour doubler le temps de thrombine chez le rat est 2 fois inférieure à celle obtenue avec le composé de référence (DUP 714). Avec le composé de l'exemple 3, la concentration nécessaire pour doubler le temps de thrombine chez l'homme est 2,5 fois inférieure à celle obtenue avec le composé de référence (DUP 714).

Exemple 64 : Inhibition de la thrombine et des sérines protéases de la coagulation et de la fibrinolyse

Pour évaluer in vitro l'activité inhibitrice des produits borosarginiques sur la thrombine humaine (Sigma, activité spécifique 3230 UNH/mg), le fibrinogène humain purifié (4 mM, stago) (Fg) ou le substrat chromogène H-D-Phe-Pip-Arg-pNa (44 mM, S2238, Kabi) ont été ajoutés à une quantité donnée de thrombine (0,7 ou 2 nM) préalablement incubée avec ou sans l'inhibiteur à tester (20°C, 10 minutes).

Pour évaluer in vitro la sélectivité de ces produits vis-à-vis de différentes sérines protéases de la fibrinolyse et de la coagulation, le même protocole a été appliqué à la plasmine humaine purifiée (2 nM, Stago), à la protéine C activée humaine purifiée (2 nM, STAGO), au facteur X activé humain purifié (2 nM, Stago), à

l'activateur tissulaire du plasminogène (2 nM, Calbiochem), à l'urokinase humaine purifiée (2 nM, Sigma), à la kallikreine plasmatique humaine purifiée (2 nM, Calbiochem) en utilisant pour substrats différents peptides paranitroanilidés : <Glu-Phe-Lys-pNA (0.50 mM, S 2403, Kabi) pour la plasmine, N-Cbo-Arg-Gly-Arg-pNA (0.38 mM, S 2765, Kabi) pour le facteur Xa, <Glu-Pro-Arg-pNA (0.52 mM, S 2386, Kabi) pour la protéine C activée, H-D-Pro-Phe-Arg-pNA (0.45 mM, S 2302, Kabi) pour la kallikreine, H-D-Ile-Pro-Arg-pNA (0.48 mM, S 2288, Kabi), <Glu-Gly-Arg-pNA (0.56 mM, S 2444, Kabi).

Inhibiteurs, enzymes et substrats sont dilués dans le même tampon (tampon phosphate 0,01 mM, pH 7,4, contenant 0,12 M de chlorure de sodium et 0,05 % de sérum albumine bovine) puis distribués dans une microplaque en polystyrène sous un volume de 50 µl.

La fibrine formée par la thrombine ou par le paranitroanilide libéré par l'action de la sérine protéase est mesurée spectrophotométriquement à 405 nm après 15 à 30 minutes de réaction à 20°C.

Le tableau ci-dessous donne la concentration de composé inhibant 50 % de l'activité enzymatique (CI 50) en présence du produit de référence (DUP 714) et des composés des exemples 25, 27, 28 par rapport au contrôle sans produit. Les résultats démontrent que les composés des exemples 25 et 28 sont des inhibiteurs de la thrombine humaine plus puissants que le composé de référence vis-à-vis du fibrinogène humain. Les composés des exemples 25, 27 et 28 possèdent une sélectivité supérieure vis-à-vis des sérines protéases de la coagulation et de la fibrinolyse, à celle du DUP 714.

Exemples	CI50 (nM)							
	Thrombine		Plasmine	tPA	Urokinase	FXa	Kalli	PCa
	Fg	S2238						
Ref. DUP 714	0.55	2.0	28	8	24	41	8	17
Ex. 28	0.46	2.0	445	47	1821	225	91	82
Ex. 25	0.45	2.0	818	14	1636	356	75	211
Ex. 27	0.79	2.5	735	38	3176	1757	104	149

Exemple 65 : Mesure de l'activité anti-coagulante ex vivo. Administration des produits per os (Rat éveillé).

- Les rats OFA, à jeun, sont anesthésiés à l'éther. L'artère caudale est dégagée et cathétérisée. Le cathéter est purgé avec du sérum physiologique citraté (1/40). Après installation du cathéter, l'animal est placé dans une cage à contention et 1,5 cm³ de sang artériel est prélevé sur citrate 0,109 M (1/9).
- 1 heure après le réveil de l'animal, les produits à tester sont administrés per os à une dose unique de 10 mg/kg.
- Des prélèvements artériels (1,5 ml) sont alors effectués à 30 minutes, 60 minutes, 2 heures.
- A chaque prélèvement, 1,5 ml de sérum physiologique est réinjecté à l'animal.
- Les tubes de sang sont centrifugés 15 minutes à 3000 g pour la préparation du plasma. Le temps d'apparition du phénomène de coagulation est mesuré après addition de thrombine Prest.
- Les composés de l'invention augmentent de façon dose-dépendante le temps de thrombine (TT) et leur activité est égale ou supérieure à celle obtenue avec le composé de référence (DUP 714) durant les 2 premières heures. Les résultats sont reproduits dans le tableau suivant et montrent les indices d'augmentation du temps de thrombine.

Produit	Temps (heures)		
	0.5	1	2
DUP 714	4.0	3.7	3.9
Ex. 3	7.7	7.1	5.6

Exemple 66 : Mesure de l'activité anti-coagulante ex vivo. Administration des produits par voie intraveineuse (I.v.)

Les rats OFA, à jeun ou non, sont anesthésiés au pentobarbital (60 mg/kg, i.p.). L'artère carotide et la veine jugulaire sont dégagées et cathétérisées. Les cathéters sont purgés avec du sérum physiologique citraté (1/40). Après installation des cathéters, un prélèvement de 1,5 cm³ de sang artériel est effectué sur citrate 0,109 M (1/9).

- 30 minutes après, le produit à tester est administré sous un volume de 1 ml en i.v.
- Des prélèvements artériels (1,5 ml) sont alors effectués à 1 minute 30, 5, 15, 30 et 60 minutes.
- A chaque prélèvement, 1,5 ml de sérum physiologique citraté est réinjecté à l'animal via la carotide.
- Les tubes de sang sont centrifugés 15 minutes à 3000 g (préparation de plasma).
- 100 µl de plasma sont incubés avec 100 µl de céphaline activée. Le temps d'apparition du phénomène de coagulation est mesuré, après addition de 100 µl de calcium.
- Les composés de l'invention, testés à la dose de 0,5 mg/kg augmentent de façon dose-dépendante le temps de céphaline activée (TCA). L'effet est comparable ou plus important que celui du composé de référence (DUP 714). L'augmentation du TCA notée avec les composés de l'invention est toujours significative 60 minutes après leur administration. Les résultats sont reproduits dans le tableau suivant et montrent les indices d'augmentation du temps de coagulation.

Produit	Temps (minutes)				
	15.5	5	15	30	60
DUP 714	7.6	3.4	2.0	1.7	1.4
Ex. 3	7.3	4.7	3.6	2.6	2.0
Ex. 27	5	2.3	1.7	1.5	1.3

Exemple 67 : Activité anti-coagulante et thrombopénie p.o. chez le chien

Les produits ont été administrés par voie orale chez le chien. 2 heures et 4 heures après le traitement, le sang a été prélevé par voie intraveineuse. Le plasma est préparé, les plaquettes sont comptées et le test de temps de thrombine est pratiqué.

Le tableau démontre que le DUP 714 à 2.5 mg/kg a augmenté le TT mais a provoqué une forte thrombopénie. Les produits de l'invention à 5 mg/kg ont provoqué des augmentations du TT plus importantes que le DUP 714 sans modification du nombre de plaquettes.

		Indice d'augmentation TT		Variation du nbre de plaquettes (% de contrôle)
Ref. DUP 714 (2.5 mg/kg)	2 hr	7		- 32 %
	4 hr	2		- 16 %
Ex. 27 (5 mg/kg)	2 hr	11		- 4 %
	4 hr	3		- 1 %
Ex. 28 (5 mg/kg)	2 hr	11		- 4 %
	4 hr	2		+ 1 %

Exemple 68 : Composition pharmaceutique

5

10

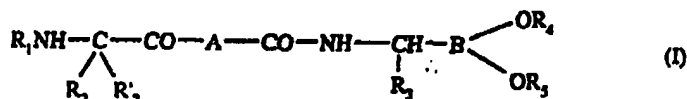
15

Formule de préparation pour 1000 comprimés dosés à 10 mg :	
Composé de l'exemple 3	10 g
Hydroxypropylcellulose	2 g
Amidon de blé	10 g
Lactose	100 g
Stéarate de magnésium	3 g
Talc	3 g

20

Revendications**1. Composés de formule (I) :**

25



30

dans laquelle :

R_1 représente un atome d'hydrogène ou un groupement acyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, benzyle, alkoxy-carbonyl (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, benzyloxy-carbonyl, phénoxy-carbonyl, 5-[(diméthyl)amino]naphtylsulfonyl, alkoxy-carbonylméthyle ou carboxyméthyle,

35

R_2 représente un atome d'hydrogène ou un groupement :

- phényle,
- benzyle (substitué ou non sur le noyau phényle par un ou plusieurs atomes d'halogène ou groupements alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, alkoxy (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, hydroxy ou bicyclooct-1-yle (substitué ou non par un groupement hydroxy ou alkoxy (C_1-C_6) linéaire ou ramifié)),
- thiényméthyle,
- (pyridinyl)méthyle,
- diphénylméthyle,
- fluorényle,
- naphtylméthyle,
- benzocyclobutyle,
- (dicyclopropylméthyl)méthyle,
- indanyle,
- ou, cycloalkyl (C_3-C_7)méthyle,

40

45

R'_2 représente un atome d'hydrogène ou un groupement benzyle

50

ou bien

R_2 et R'_2 représentant ensemble $C_6H_5-CH=$,

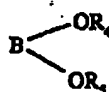
R_3 représente un groupement :

- alkyle (C_2-C_4) linéaire ou ramifié substitué par un groupement alkoxy (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, phénoxy, guanidino, amidino, amino, 2-tétrahydrofuryle ou cycloalkyle (C_3-C_7),
- guanidinophényle, amidinophényle, aminophényle,
- guanidinobenzyle, amidinobenzyle, aminobenzyle,
- ou, cycloalkyle (C_3-C_7),

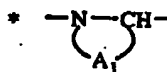
55

R_4 et R_5 représentent chacun un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle (C_1-C_6) linéaire ou

**ramifié,
ou**



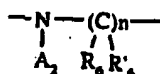
forme un ester boronique de pinanediol,
représente l'un quelconque des groupements suivants :



dans lequel :

A₁ représente avec les atomes d'azote et de carbone avec lesquels il est lié une structure cyclique choisie parmi les structures suivantes :

- perhydroindole,
- 2-azabicyclo[2.2.2]octane,
- 2-azabicyclo[3.3.0]octane,
- 2-azabicyclo[2.2.1]heptane,
- perhydroisindole,
- indoline,
- isindoline,
- perhydroquinoléine,
- perhydroisoquinoléine,
- 1,2,3,4-tétrahydroquinoléine,
- 1,2,3,4-tétrahydroisoquinoléine,
- thiazolidine éventuellement substituée par un ou plusieurs groupements alkyl (C_1-C_6) linéaire ou ramifié.



dans lequel:

၈

représente 1 ou 2.

représente un atome d'hydrogène ou un groupement cycloalkyle (C_3-C_7), alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié ou carboxyméthyle,

représente un atome d'hydrogène.

R'

ou bien

 R_n et R'_n

forment avec l'atome de carbone qui les portent un groupement cycloalkyle (C_3-C_7), représente un groupement alkyle (C_1-C_6) linéaire ou ramifié, phényle, indanyle, cycloalkyle (C_3-C_7) (substitués ou non par un ou plusieurs groupements méthyle) cycloalkényle (C_3-C_7), cyclopentadiényle, 2,2,2-trifluoro-1-cyclopentyléthyl, bicyclo[2.1.1]hexyl, bicyclo[2.2.1]heptyl ou un groupement :



dans lequel

X et Y différents représentent un atome d'oxygène, de soufre, un groupement NH ou CH₂.

ou bien

A_2 représente un atome d'hydrogène (à la condition que dans ce cas R_6 représente un groupement cycloalkyle (C_3-C_7) et R'_6 représente un atome d'hydrogène, ou bien R_6 et R'_6 formant avec l'atome de carbone qui les portent un groupement cycloalkyle (C_3-C_7)).

leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

2. Composés de formule (I) selon la revendication 1 dans laquelle R_1 représente un groupement acétyl, leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

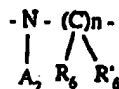
3. Composés de formule (I) selon la revendication 1 dans laquelle R_2 représente un groupement benzyl, leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

4. Composés de formule (I) selon la revendication 1 dans laquelle A représente un groupement



tels que défini dans la revendication 1, leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

5. Composés de formule (I) selon la revendication 1 dans laquelle A représente un groupement



tels que défini dans la revendication 1, leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

6. Composés de formule (I) selon la revendication 4 dans laquelle A_1 représente avec les atomes d'azote et de carbone avec lesquels il est lié un cycle perhydroindole, leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

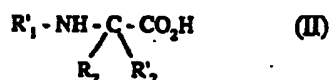
7. Composés de formule (I) selon la revendication 1 dans laquelle R_3 représente un groupement guanidinoalkyle (C_2-C_4) linéaire ou ramifié, leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

8. Composés de formule (I) selon la revendication 1 dans laquelle R_5 représente un groupement cycloalkyle (C_3-C_7), leurs énantiomères, diastéréoisomères et épimères ainsi que leurs sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

9. Composé de formule (I) selon la revendication 1 qui est l'acide 1-(R)-[(Ac-(R)Phe-Phi)amino]-4-guanidinobutyl boronique, Ac représentant acétyl, (R)Phe représentant (R)-phénylalaninyl, Phi représentant (2S,3aS,7aS) perhydroindole-2-carbonyl, ses isomères ainsi que ses sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

10. Composé de formule (I) selon la revendication 1 qui est l'acide 1-(R)-[(Ac-Phe-(N-cyclopentyl)Gly)amino]-4-guanidinobutyl boronique, acétate, Ac représentant acétyl, Phe représentant phénylalaninyl de configuration (R,S) ou (R), Gly représentant glycylyl, ses énantiomères ainsi que ses sels d'addition à un acide ou à une base pharmaceutiquement acceptable.

11. Procédé de préparation des composés de formule (I) selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'on fait réagir un amino-acide protégé de formule (II), dont on a éventuellement séparé les isomères par une technique classique de séparation :



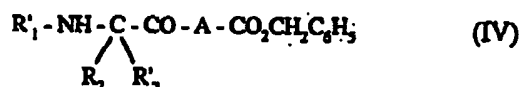
dans laquelle :

R'_1 représente un groupement acyle ($\text{C}_1\text{-C}_6$) linéaire ou ramifié, benzyle, alkoxycarbonyl ($\text{C}_1\text{-C}_6$) linéaire ou ramifié, benzyloxycarbonyl ou phénoxycarbonyl, et

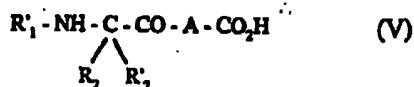
R_2 et R'_2 ont la même signification que dans la formule (I), que l'on fait réagir selon une technique de couplage peptidique avec un deuxième amino-acide protégé de formule (III) dont on a éventuellement séparé les isomères selon une technique classique de séparation,



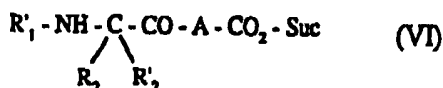
dans laquelle A a la même signification que dans la formule (I), pour conduire au composé de formule (IV) :



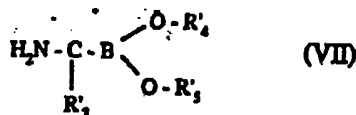
dans laquelle R'_1 , R_2 , R'_2 et A ont la même signification que précédemment, dont on déprotège la fonction acide par hydrogénation catalytique pour conduire au composé de formule (V) :



dans laquelle R'_1 , R_2 , R'_2 et A ont la même signification que précédemment, que l'on met en réaction avec du N-hydroxysuccinimide en présence de 1,3-dicyclohexylcarbodiimide en milieu anhydre, pour conduire au composé de formule (VI) :



dans laquelle R'_1 , R_2 , R'_2 et A ont la même signification que précédemment et Suc représente un radical succinimido, que l'on met en réaction en milieu basique avec un composé de formule (VII) :

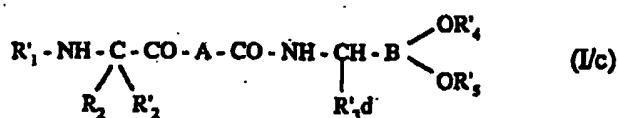


dans laquelle :

R'_3 représente un groupement :

- alkyle ($\text{C}_2\text{-C}_4$) linéaire ou ramifié substitué par un atome d'halogène ou un groupement alkoxy ($\text{C}_1\text{-C}_6$) linéaire ou ramifié, phénoxy, 2-tétrahydrofuryle ou cycloalkyle,
- cycloalkyle ($\text{C}_3\text{-C}_7$),
- phényle ou benzyle, chacun étant substitué par un atome d'halogène ou un groupement amino convenablement protégé,

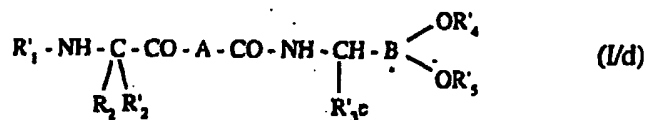
R'_4 et R'_5 représente chacun un groupement alkyle ($\text{C}_1\text{-C}_6$) linéaire ou ramifié, ou



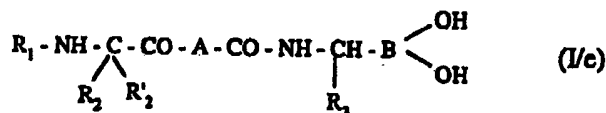
dans laquelle R'_1 , R_2 , R'_2 , A , R'_4 et R'_5 ont la même signification que précédemment et R'_3d représente un groupement alkyle, phényle ou benzyle, chacun étant substitué par un groupement amino,

composé de formule (I/c),

dont on peut transformer le radical amino du groupement R'_3d en radical guanidino par réaction avec du cyanamide, pour conduire au composé de formule (I/d), cas particulier des composés de formule (I) :



dans laquelle R'_1 , R_2 , R'_2 , A , R'_4 et R'_5 ont la même signification que précédemment et R'_3e représente un groupement alkyle, phényle ou benzyle, chacun étant substitué par un groupement guanidino, composé de formule (I/a), (I/b), (I/c) ou (I/d) dont on déprotège, si on le souhaite, la fonction amine terminale et que l'on transforme, en milieu inerte, à l'aide de trichlorure de bore, en acide boronique de formule (I/e), cas particulier des composés de formule (I) :



dans laquelle R_1 , R_2 , R'_2 , A et R_3 ont la même signification que dans la formule (I), composé de formule (I/a), (I/b), (I/c), (I/d) ou (I/e) :

- que l'on purifie éventuellement selon une technique classique de purification,
- dont on sépare, si on le souhaite, les énantiomères selon une technique classique de séparation et que l'on transforme, le cas échéant, en ses sels d'addition à un acide ou une base pharmaceutiquement acceptable.

12. Compositions pharmaceutiques contenant comme principe actif au moins un composé selon l'une quelconques revendications 1 à 10, seul ou en combinaison avec un ou plusieurs véhicules inertes, non toxiques pharmaceutiquement acceptables.

13. Compositions pharmaceutiques selon la revendication 12 utiles en tant qu'inhibiteurs de trypsine-like sérine protéases.

14. Compositions pharmaceutiques selon la revendication 12 utiles en tant qu'inhibiteurs de thrombine.

Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numero de la demande

EP 94 40 0393

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (In.CLS)
P,X	FR-A-2 694 295 (ADIR ET COMPAGNIE) * revendications; exemples *	1,12-14	C07K5/06 A61K37/64 C07F5/02
X	EP-A-0 315 574 (HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT) * revendications; exemples *	1,12-14	
D,A	EP-A-0 471 651 (SANDOZ LTD.) * revendications; exemples *	1,11-13	
A	WO-A-92 07869 (THROMBOSIS RESEARCH INSTITUTE) * revendications; exemples *	1,11-13	
A	TETRAHEDRON LETTERS vol. 33, no. 29, 14 Juillet 1992, OXFORD GB pages 4209 - 4212 S. ELGENDY ET AL 'New Peptide Boronic Acid Inhibitors of Thrombin' * tableaux 1-3 *	1,11-13	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (In.CLS)
			C07K C07F
Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications			
Lieu de la recherche LA HAYE		Date d'achèvement de la recherche 17 Juin 1994	Examinateur Fuhr, C
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : artère-plus technologique O : divulgation non-écrite P : document intervenant			

EPO FORM 1500 (12/92) (FR-CE)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)